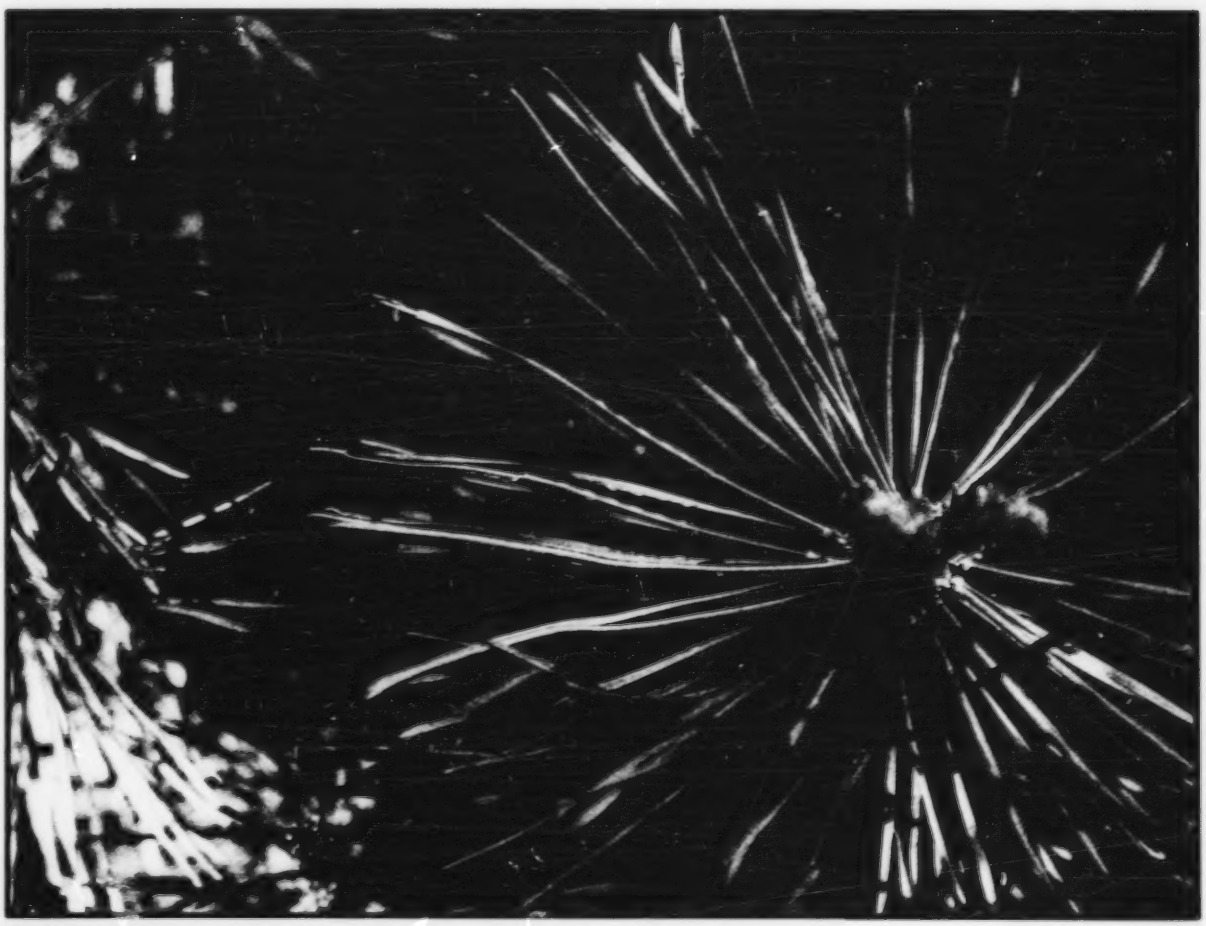
Ecology of European Pine Sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) Nuclear Polyhedrosis Virus

The development of nuclear polyhedrosis virus epizootics in sawfly populations

William J. Kaupp
Forest Pest Management Institute • Information Report FPM-X-88



Forestry Canada Forêts Canada

Canada

ECOLOGY OF EUROPEAN PINE SAWFLY, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS

The development of nuclear polyhedrosis virus epizootics in sawfly populations

■

William J. Kaupp
Forest Pest Management Institute
Forestry Canada

FPM-X-88

1989

91-05853/

© Minister of Supply and Services, Canada, 1990
Catalogue Number F046-16/88
ISBN 0-662-58316-7
ISSN 0833-5540

—

Additional copies of this publication are available free of charge from:

Information Services
Forest Pest Management Institute
Forestry Canada
1219 Queen St. E.
Sault Ste. Marie, Ont.
Canada P6A 5M7

—

Copies or microfiches of this report are also available from:

Micromedia Ltd.
Place du Portage
165, rue Hotel-de-Ville
Hull, Quebec J8X 3X2

TABLE *of* CONTENTS

INTRODUCTION 1

METHODS 1

Population Assessment 1

Sampling to determine the incidence of virus infection in the sawfly populations 2

RESULTS AND DISCUSSION 2

CONCLUSIONS 4

REFERENCES 9

Kaupp, W.J. 1990. Ecology of European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) nuclear polyhedrosis virus. II. The development of nuclear polyhedrosis virus epizootics in sawfly populations. Forestry Canada, For. Pest Manage, Inst. Inf. Rep. FPM-X-88.

ABSTRACT

The development of a nuclear polyhedrosis virus (NPV) epizootic in nine *Neodiprion sertifer* (Geoff.) populations was illustrated by the construction of sigmoid infection growth curves (IGCs). These ICGs indicated that epizootic development was influenced by inoculum production and NPV persistence acting in conjunction with sawfly population density. *N. sertifer* NPV epizootics are density-dependent.

The IGCs were normalized using the transformation $\log_{10}[(X)/(1-X)]$ to determine the rate of development of infection in each population. A low infection rate, under 0.02 infection units/day, was calculated for densities below 1 colony/tree, while rates above 0.05 infection units/day were recorded at higher densities. Similar rates were observed for NPV epizootics in populations of *N. lecontei*. There is a need for more precise measurement of epizootic development so that meaningful comparisons can be made between different insect-virus complexes.

RÉSUMÉ

On a illustré, au moyen de courbes sigmoïdes de croissance de l'infection (CCI), l'évolution d'une épizootie causée par un virus de la polyédrose nucléaire (VPN) dans 9 populations de *Neodiprion sertifer* (Geoff.). Ces courbes ont indiqué que l'évolution de l'épizootie l'était influencée par, d'une part, la production d'inoculum et la persistance du VPN et, d'autre part, la densité de la population de diprions. L'épizootie causée par le VPN de *N. sertifer* est un phénomène dépendant de la densité.

On a normalisé les CCI au moyen d'une transformation de type $\log_{10}[(X)/(1-X)]$ pour déterminer le taux d'évolution de l'infection dans chaque population. Un faible taux d'infection, inférieur à 0,02 unité infectieuse/jour, a été calculé pour des densités inférieures à une colonie par arbre, tandis que des taux supérieurs à 0,05 unité infectieuse/jour ont été observés pour de plus fortes densités de population. Des taux d'infection similaires ont été relevés pour des épizooties de VPN dans des populations de *N. lecontei*. Il faudrait effectuer des mesures plus précise de l'évolution des épizooties, de façon à établir des comparaisons significatives entre différents complexes insecte-virus.

INTRODUCTION

Several studies have been conducted on the development of nuclear polyhedrosis virus (NPV) disease epizootics in forest insect pests (Bird and Burke 1961; Stairs 1965; de Groot and Cunningham 1983; Woods and Elkinton 1987; Cunningham *et al.* 1988; Kaupp *et al.* 1989). All have illustrated the complexities in the relationship between the progress of infection, the host insect population and the environment. In a recent review, Entwistle (1986) made these relationships very evident and highlighted their importance in the successful use of viruses for insect control.

This report describes the development of NPV infection in several populations of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer*, and illustrates the effect of host population density, epizootic history, and weather on disease epizootics. It comprises part of a 3-year study conducted in Great Britain on the ecology of this NPV (Kaupp 1981; 1983a,b).

METHODS

A comprehensive description of the nine study plots is given in Kaupp *et al.* (1989). However, for completeness, this information is also provided in Table 1.

Table 1. Description of study plots

Study area & forest	Study plot number	Date planted	Number of trees in plot	Area of plot (m^2)	Approx. tree height in 1978	Presence of sawfly in 1977	Presence of virus in 1977
Coed-y-Raiadr	W1	1970	100	638	3.0m	yes	yes
Coed-y-Raiadr	W2	1970	100	352	3.0m	yes	yes
Coed-y-Raiadr	W3	1968	100	226	2.0m	yes	yes
Coed-y-Raiadr	W4	1970	50	341	1.2m	yes	yes
Coed-y-Raiadr	W9	1970	50	164	1.6m	*	*
Langdale	Y5	1966	100	252	1.5m	yes	yes
Langdale	Y6	1968	100	234	1.5m	yes	yes
Sneaton	Y7	1972	100	496	1.0m	yes	no
North Dalchork	S8	1971	25	82	2.0m	yes	unknown

**plot established in 1979*

Population Assessment.

The number of *N. sertifer* egg masses present in each plot was assessed in the spring (Table 2). After eclosion, the absolute number of sawfly colonies was determined. Healthy colonies were counted on all the trees. A healthy colony was defined as a group of two or more feeding larvae showing no overt

Table 2. Intital colony density and percentage of colonies killed by virus disease in the study plots

Plot	Plot area (m2)	Number of trees	1978		1979		1980	
			Number of colonies per plot	% colony mortality	Number of colonies per plot	% colony mortality	Number of colonies per plot	% colony mortality
W1	638	100	2,638	0.03	151	0	224	0
W2	352	100	2,007	1.5	196	0	478	0
W3	226	100	144	5.0	23	40.0	13	0
W4	341	50	494	0.4	69	0	132	0
Y5	252	100	32	87.5	8	75.0	2	0
Y6	234	100	238	99.9	56	99.9	24	25
Y7	496	100	1,862	98.5	55	99.9	12	41.6
S8	82	25	1,629	96.8	891	99.8	109	99.1
W9	164	50	–	–	186	0	543	0

signs of virus infection. The effects of various mortality factors on the larval population were determined from the difference between the initial colony count and subsequent, weekly, counts of healthy colonies

Sampling To Determine The Incidence Of Virus Infection In The Sawfly Populations.

Immediately after eclosion through to the time larvae disappeared from the trees, random samples of sawfly larvae were collected at weekly intervals from each plot. One larva from each colony sampled was collected, placed in a vial and stored at -20°C until diagnosed. Only colonies that appeared to be healthy were sampled.

Thin smears of each larva were made on glass microscope slides using disposable toothpicks to tease apart and spread the insect tissue. Use of toothpicks removed the possibility of cross-contamination between smears. The slides were stained with Giemsa stain (Wigley 1980). All smears were examined for viral inclusion bodies using oil immersion optics. Positive smears were assumed to have been collected from colonies infected with NPV. From these diagnostic results, in conjunction with colony counts, the proportion of sawfly colonies infected with NPV was estimated at weekly intervals. This data was used to develop infection growth curves (IGCs) for each sawfly population.

RESULTS AND DISCUSSION

Virus epizootics were observed in 5 of the 9 plots; no epizootics were observed in plots W1, W2, W4 and W9 (Table 2). In diseased sawfly populations, the proportion of larvae infected with NPV increased with larval development, producing a sigmoid infection growth curve (IGC).

Epizootics were observed in 1978 and 1979 in plot W3 (Fig. 1). NPV infection was detected in the sawfly population 28 days after egg hatch in 1978, and this caused 5% mortality. It was calculated that 1.06 X 10^{12} polyhedral inclusion bodies (PIBs)/ha were released into the forest ecosystem from the death of these larvae (Kaupp 1983a). These PIBs affected the 1979 epizootic, which began to cause insect mortality 20 days after egg hatch and affected 40% of the population. The quantity of inoculum

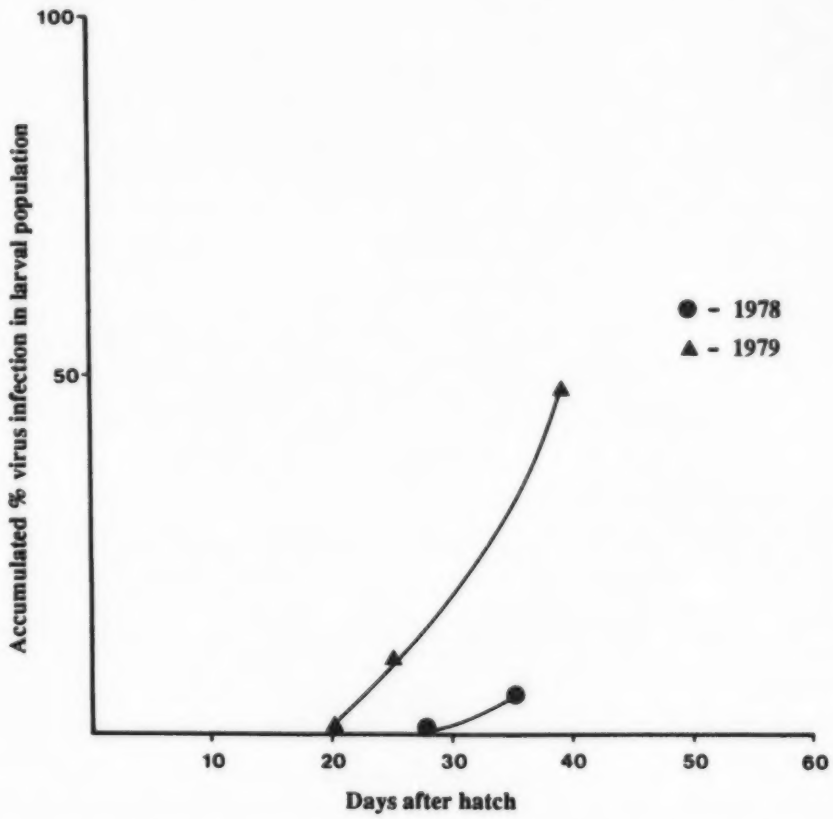


Figure 1. Infection growth curves (IGCs) of NPV epizootics observed in sawfly populations in plot W3 in 1978 and 1979; there was no epizootic in 1980.

released following the death of these larvae was calculated to be 4.5 X 10^{12}PIBs/ha (Kaupp 1983a). It is evident that inoculum produced during the epizootic in 1978 contributed to the development of an earlier epizootic in 1979. In 1980, NPV disease was not found in the 13 colonies that remained, indicating that population density is as important as the presence of inoculum for the development of an epizootic.

Dramatic epizootics were observed in plots Y5, Y6, and Y7 (Fig. 2). IGCs describing infection in these plots in 1978 were sigmoid, the first mortality due to NPV occurred 6 days after egg hatch and ended in 87.5%, 99.9% and 98.5% larval mortality in each plot, respectively. It was calculated that 2.8 X 10^{12}

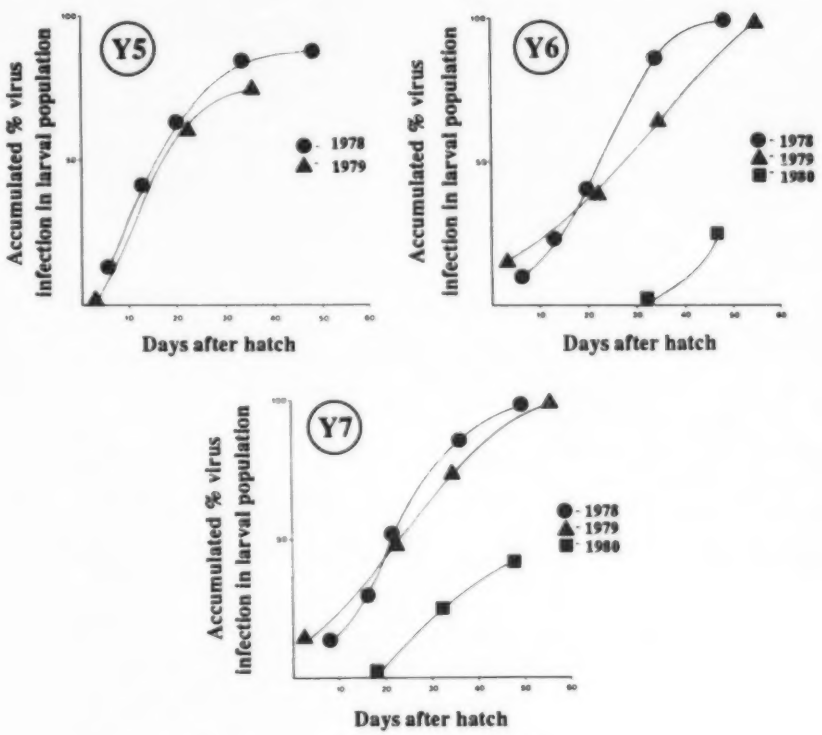


Figure 2. Infection growth curves (IGCs) of NPV epizootics occurring in sawfly populations in plots Y5, Y6 and Y7. Populations in plot Y were not affected by NPV epizootics in 1980.

3.7 X 10^{13} and 3.3 X 10^{14} PIBs/ha respectively, were released into the forest ecosystem from these plots due to death of larvae (Kaupp 1983a). In 1979, epizootics caused 75.0%, 99.9% and 99.9% mortality in plots Y5, Y6, and Y7 respectively, with disease observed 3 days earlier than in 1978. This event was in direct response to the large quantities of virus that were produced in 1978 and persisted on the trees. However, the quantity of inoculum produced in 1979, 5.5 X 10^{11} PIBs/ha, 9.4 X 10^{12} PIBs/ha and 4.4 X 10^{12} PIBs/ha for plot Y5, Y6 and Y7, was less than the amount produced in 1978, which reflected the lower population levels (Kaupp 1983a). In 1980 no epizootic was observed in plot Y5. Levels of virus disease in plots Y6 and Y7 were much lower, with the first indication of infection observed at 20-30 days after egg hatch. Although virus was present in the environment, reduced population levels impeded the development of a major epizootic.

Epizootics in plot S8 occurred in much the same manner as in plots Y5, Y6 and Y7 (Fig. 3). In 1978, disease was first observed 6 days after hatch, with the IGC being sigmoid and reaching a level of 96.8% infection. This resulted in 2.3 X 10^{15} PIBs/ha being released into the forest ecosystem (Kaupp 1983a). As a result, the epizootic in 1979 occurred earlier than in 1978 and with more intensity, resulting in

99.8% insect mortality. As expected, only 3.9×10^{14} PIBs/ha was calculated to have been released into the forest ecosystem (Kaupp 1983a). In 1980, an epizootic was observed in the sawfly population probably due to the large quantities of NPV persisting in the canopy. However, infection was not detected until late in the season because of the reduced sawfly population. An abatement in the development of virus infection observed in the IGC can be attributed to a period of cold weather delaying both insect and pathogen development.

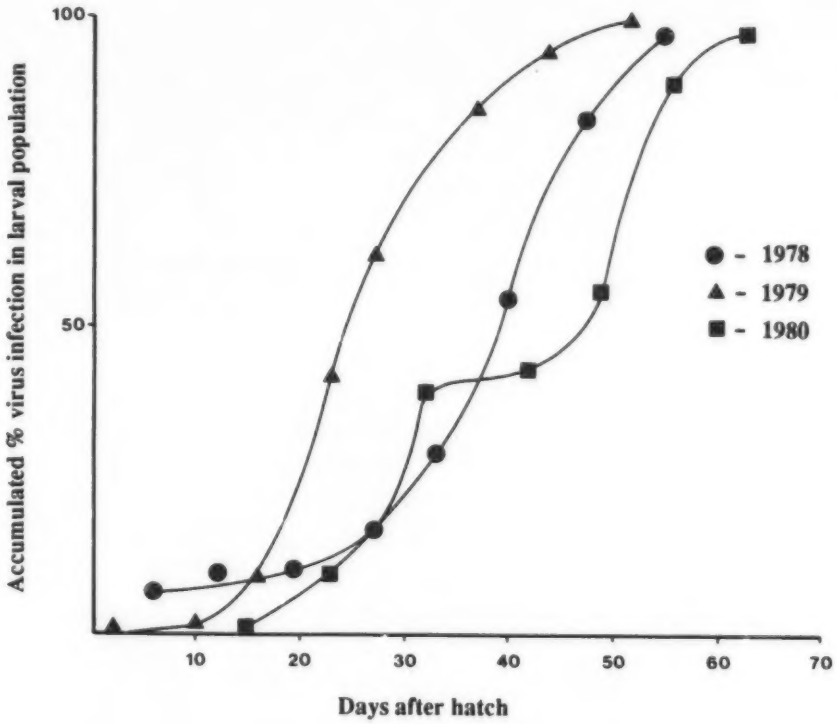


Figure 3. Infection growth curves (IGCs) of NPV epizootics in sawfly populations in plot S8.

To compare the rate of infection in the various populations, the IGCs were normalized by use of the transformation $\log_{10}[(X)/(1-X)]$, where "X" is the proportion of the population infected when sawfly densities are greater than 1 colony per tree. When sawfly population density was lower, the transformation $\log_{10}[(1)/(1-X)]$ was applied to infection data because disease development reflected only the impact of primary inoculum with no chance of multiple growth of infection resulting from infection and/or death of adjacent colonies (van der Plank 1963) (Fig. 4). Examination of the slopes of these normalized IGCs indicated that epizootics in sawfly populations greater than 1 colony per tree developed at much higher rates (0.05 - 0.09 infection units per day) than for populations with lower host densities (0.01 - 0.02 infection units per day) (Table 3). This difference can be attributed to

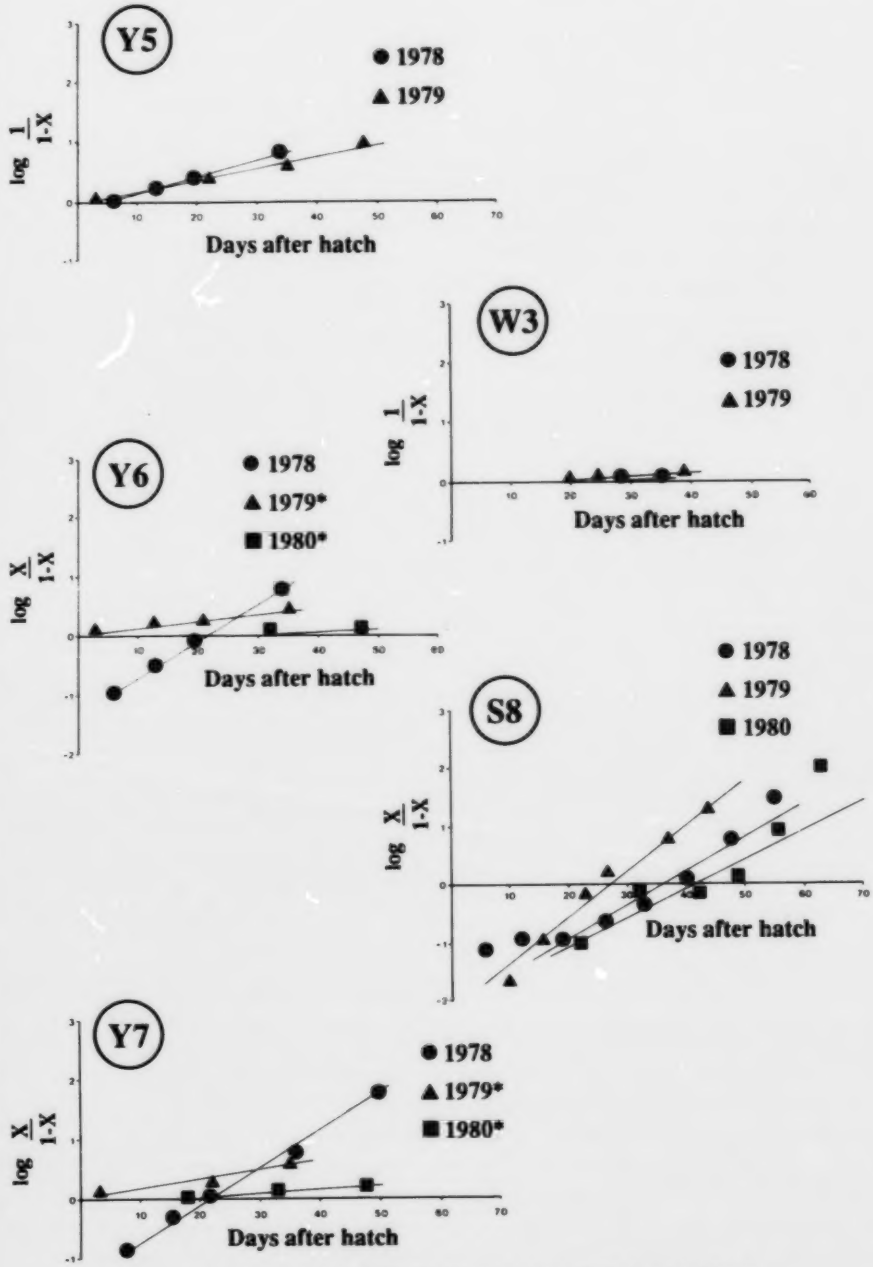


Figure 4. Normalized IGCs of all study plots. "*" denotes those years in which IGC was normalized by $\log_{10}$ [(1)/(1-X)].

interrelated dynamics involving disease spread, inoculum production and NPV persistence in changing densities of European pine sawfly. In this case, it reflects the density-dependence of *N. sertifer* NPV epizootics. Lower rates of infection reflect the reduced chance of infection of larvae with inoculum persisting in the canopy when population densities are low.

Table 3. Infection rates derived from the slopes of normalized infection growth curves

Plot	1978	1979	1980
S8	0.05	0.08	0.06
Y7	0.06	0.02	0.01
Y6	0.06	0.01	0.01
Y5	0.02	0.02	NV
W3	0.01	0.02	NV

"NV" no virus infection in population

CONCLUSIONS

The development of NPV disease epizootics in *N. sertifer* populations is density-dependent and infection usually develops in a typical sigmoid pattern. The nature of epizootics is also affected by weather and by the amount of inoculum produced in previous epizootics. Large amounts of inoculum tend to increase the persistence of NPV in the forest canopy, resulting in infection of the next sawfly generation at an earlier larval instar. This results in reduced inoculum production, which in turn contaminates the forest ecosystem. In conjunction with a reduction in sawfly numbers, the nature of the virus epizootic changes from dramatic to casual infection of the insect population.

The rate of epizootic development in high density European pine sawfly populations is similar to that observed in virus epizootics in redheaded pine sawfly, *Neodiprion lecontei* (Fitch), populations (de Groot and Cunningham 1983). Data available for other insects cannot be used to determine the rate of epizootic development because sampling methods were not designed to establish the proportion of the insect host population infected at any one point in time. Although percentage infection levels are often used to assess the effectiveness of viruses, there is a need for more precise measurements so that meaningful comparisons can be made between different insect-virus complexes.

REFERENCES

Bird, F.T. and Burke, J.M. 1961. Artificially disseminated virus as a factor controlling the European spruce sawfly, *Diprion hercyniae* (Htg.), in the absence of introduced parasites. Can. Entomol. *93*; 228-238.

Cunningham, J.C., Kaupp, W.J., and Howse, G.W. 1988. Experimental aerial application of Disparvirus for control of gypsy moth in Ontario. Rept. 16th Ann. For. Pest Contl. Forum. Nov. 15, 1988. Ottawa, Canada. 13pp.

de Groot,P. and Cunningham, J.C. 1983. Aerial spray trials with a baculovirus to control redheaded pine sawfly in Ontario in 1979 and 1980. Forestry Canada. Forest Pest Management Institute Info. Rept. FPM-X-63. 12pp.

Entwistle, P. 1986. Epizootiology and strategies of microbial control. Fortschritte der Zoologie *32*; 257-278.

Kaupp, W.J. 1981. Studies on the ecology of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) D.Phil. Thesis. Univ. of Oxford. Oxford, U.K. 363pp.

Kaupp, W.J. 1983a. Estimation of nuclear polyhedrosis virus produced in field populations of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) (Hymenoptera:Diprionidae). Can. J. Zool. *61*; 1857-1861.

Kaupp, W.J. 1983b. Persistence of *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera: Diprionidae) nuclear polyhedrosis virus on *Pinus contorta* foliage. Can. Entomol. *115*; 869-873.

Kaupp, W.J. 1989. Ecology of a nuclear polyhedrosis virus infecting European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) in Great Britain. Forestry Canada. Forest Pest Management Institute Inf. Rep. In Press.

Kaupp, W.J., Cunningham, J.C. and Cadogan, B.L. 1989. Aerial application of high dosages of nuclear polyhedrosis virus to early instar spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). Forestry Canada. Forest Pest Management Institute Inf. Rep. In Press.

Stairs, G. 1965. Artificial initiation of virus epizootics in forest tent caterpillar populations. Can. Entomol. *97*; 1059-1062.

Van der Plank, J.E. 1963. Plant Diseases; Epidemics and Control. Academic Press, New York, U.S.A. 349pp.

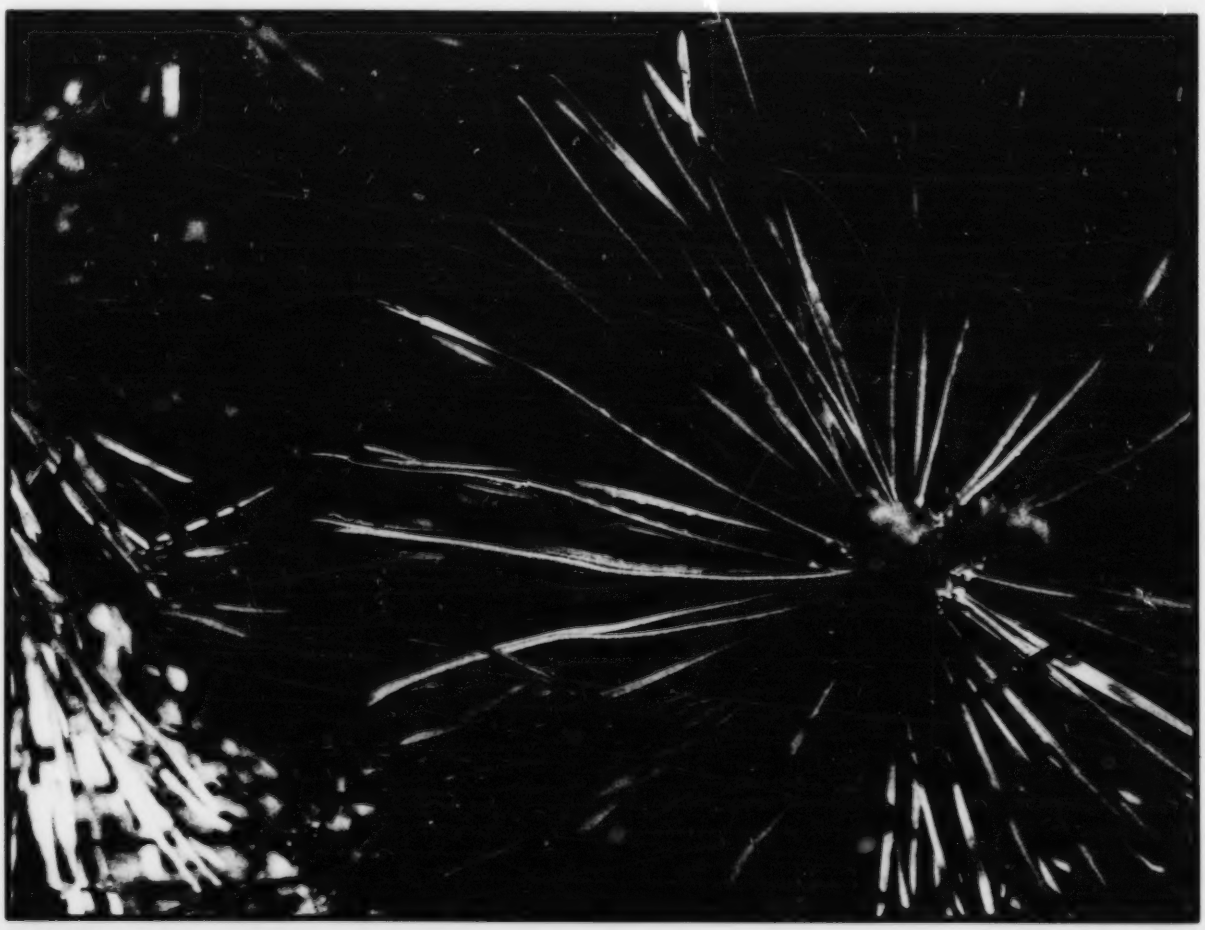
Wigley, P.J. 1980. Counting Mico-organisms. Pages 29-34 *in* J. Kalmakoff and J.F. Longworth (Eds.) Microbial Control of Insect Pests. N.Z. DSIR Bulletin 228.

Woods, S.A. and Elkinton, J.S. 1987. Bimodal patterns of mortality from nuclear polyhedrosis virus in gypsy moth (*Lymantria dispar*) populations. J. Invertebr. Pathol. *50*: 151-157.

Écologie du virus de la polyédrose nucléaire qui infecte le diprion du pin sylvestre, *Neodiprion sertifer* (Geoff.)

L'évolution des épizooties causées par le virus de la polyédrose nucléaire parmi les populations de diprions

William J. Kaupp
Institut pour la répression des ravageurs forestiers • Rapport d'information FPM-X-88



Forêts Canada Forestry Canada

Canada

ÉCOLOGIE DU VIRUS DE LA POLYÉDROSE NUCLÉAIRE QUI INFECTE LE DIPRION DU PIN SYLVESTRE *Neodiprion sertifer* (Geoff.)

L'évolution des épizooties causées par le virus de la polyédrose nucléaire parmi les populations de diprions

William J. Kaupp
Institut pour la répression
des ravageurs forestiers
Fôrets Canada

FPM-X-88

1989

© Ministre des Approvisionnements et Services, Canada, 1990
Numero de catalogue F046-16/88
ISBN 0-662-58316-7
ISSN 0833-5559

—

Il est possible d' obtenir sans frais des exemplaire s de cette publication auprès des:

Services d'information
Institut pour la répression la ravageurs forestiers
Forêts Canada
C.P. 490
Sault Ste. Marie, Ont.
Canada P6A 5M7

—

Des copies ou microfiches de cette publication sont en vente chez:

Micromédia Ltée
Place du Portage
165, rue Hotel-de-Ville
Hull, Québec J8X 3X2

TABLE *des* MATIÈRES

INTRODUCTION 1

MÉTHODES 1

Évaluation des populations 2

Échantillonage pour déterminer le taux d'infection virale dans les populations de diprions 2

RÉSULTATS ET DISCUSSION 3

CONCLUSIONS 5

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 10

Kaupp, W.J. 1990. Écologie du virus de la polyédrose nucléaire qui infecte le diprion du pin sylvestre (*Neodiprion sertifer* [Geoff.]). II. L'évolution des épizooties causées par le virus de la polyédrose nucléaire parmi les populations de diprion. Forêts Canada, Institute pour la Repression des Ravageurs Forestiers Inf. Rap. FPM-X-88.

RÉSUMÉ

On a illustré, au moyen de courbes sigmoïdes de croissance de l'infection (CCI), l'évolution d'une épizootie causée par un virus de la polyédrose nucléaire (VPN) dans 9 populations de *Neodiprion sertifer* (Geoff.). Ces courbes ont indiqué que l'évolution de l'épizootie l'était influencée par, d'une part, la production d'inoculum et la persistance du VPN et, d'autre part, la densité de la population de diprions. L'épizootie causée par le VPN de *N. sertifer* est un phénomène dépendant de la densité.

On a normalisé les CCI au moyen d'une transformation de type $\log_{10}[(X)/(1-X)]$ pour déterminer le taux d'évolution de l'infection dans chaque population. Un faible taux d'infection, inférieur à 0,02 unité infectieuse/jour, a été calculé pour des densités inférieures à une colonie par arbre, tandis que des taux supérieurs à 0,05 unité infectieuse/jour ont été observés pour de plus fortes densités de population. Des taux d'infection similaires ont été relevés pour des épizooties de VPN dans des populations de *N. lecontei*. Il faudrait effectuer des mesures plus précise de l'évolution des épizooties, de façon à établir des comparaisons significatives entre différents complexes insecte-virus.

ABSTRACT

The development of a nuclear polyhedrosis virus (NPV) epizootic in nine *Neodiprion sertifer* (Geoff.) populations was illustrated by the construction of sigmoid infection growth curves (IGCs). These ICGs indicated that epizootic development was influenced by inoculum production and NPV persistence acting in conjunction with sawfly population density. *N. sertifer* NPV epizootics are density-dependent.

The IGCs were normalized using the transformation $\log_{10}[(X)/(1-X)]$ to determine the rate of development of infection in each population. A low infection rate, under 0.02 infection units/day, was calculated for densities below 1 colony/tree, while rates above 0.05 infection units/day were recorded at higher densities. Similar rates were observed for NPV epizootics in populations of *N. lecontei*. There is a need for more precise measurement of epizootic development so that meaningful comparisons can be made between different insect-virus complexes.

INTRODUCTION

Plusieurs études ont été réalisées sur les épizooties causées par des virus de la polyédrose nucléaire (VPN) chez les insectes ravageurs forestiers (Bird et Burke, 1961; Stairs, 1965; de Groot et Cunningham, 1983; Woods et Elkinton, 1987; Cunningham et collab., 1988; Kaupp et collab., 1989). Toutes ces études ont illustré la complexité des relations qui existent entre la progression de l'infection, la population de l'insecte-hôte et l'environnement. Dans une étude récente, Entwistle (1986) en a fait une démonstration très claire et a mis en évidence leur importance pour l'utilisation des virus dans la lutte contre les insectes.

Le présent article décrit l'évolution de l'infection par le VPN dans diverses populations de diprions du pin sylvestre (*Neodiprion sertifer*) et illustre les effets de la densité de la population-hôte, des antécédents en matière d'épizooties et des conditions météorologiques sur les épizooties. Les travaux décrits font partie d'une étude de 3 ans réalisée en Grande-Bretagne sur l'écologie du VPN de *N. sertifer* (Kaupp, 1981; 1983a et b).

MÉTHODES

Une description détaillée des 9 parcelles d'étude est présentée dans Kaupp et collab. (1989). Cette information est également présentée au tableau 1 du présent article.

Tableau 1. Description des parcelles d'étude

Zone ou forêt à l'étude	Numéro de la parcelle d'étude	Date de la plantation	Nombre d'arbres dans la parcelle	Superficie de la parcelle (m^2)	Hauteur approx. des arbres en 1978 (m)	Présence en 1977	Présence du virus en 1977
Coed-y-Raiadr	W1	1970	100	638	3,0m	oui	oui
Coed-y-Raiadr	W2	1970	100	352	3,0m	oui	oui
Coed-y-Raiadr	W3	1968	100	226	2,0m	oui	oui
Coed-y-Raiadr	W4	1970	50	341	1,2m	oui	oui
Coed-y-Raiadr	W9	1970	50	164	1,6m	*	*
Langdale	Y5	1966	100	252	1,5m	oui	oui
Langdale	Y6	1968	100	234	1,5m	oui	oui
Sneaton	Y7	1972	100	496	1,0m	oui	non
North Dalchork	S8	1971	25	82	2,0m	oui	Inconnue

**Parcelle établie en 1979.*

Évaluation des populations

Le nombre de masses d'oeufs de *N. sertifer* présentes dans chaque parcelle a été évalué au printemps (tableau 2). Après l'éclosion, on a déterminé le nombre absolu de colonies de diprions. On a compté les colonies saines présentes sur tous les arbres, une colonie saine étant définie comme un groupe de 2 larves ou plus qui se nourrissent et qui ne montrent aucun signe manifeste d'infection virale. On a déterminé les effets de divers facteurs de mortalité sur la population larvaire en déterminant la différence entre le nombre initial de colonies et les dénombrements hebdomadaires subséquents des colonies saines.

Tableau 2. Densité initiale des colonies et pourcentage de colonies détruites par la maladie virale dans les parcelles d'étude

			1978		1979		1980	
Parcelle	Superficie de la parcelle (m^2)	Nombre d'arbres	Nombre de colonies par parcelle	% de mortalité des colonies	Nombre de colonies par parcelle	% de mortalité des colonies	Nombre de colonies par parcelle	% de mortalité des colonies
W1	638	100	2638	0,03	151	0	224	0
W2	352	100	2007	1,5	196	0	478	0
W3	226	100	144	5,0	23	40,0	13	0
W4	341	50	494	0,4	69	0	132	0
Y5	252	100	32	87,5	8	75,0	2	0
Y6	234	100	238	99,9	56	99,9	24	25
Y7	496	100	1862	98,5	55	99,9	12	41,6
S8	82	25	1629	96,8	891	99,8	109	99,1
W9	164	50	–	–	186	0	543	0

Échantillonnage pour déterminer le taux d'infection virale dans les populations de diprions

Immédiatement après l'éclosion et jusqu'à ce que les larves aient disparu des arbres, on a prélevé au hasard, chaque semaine, des échantillons de larves de diprions dans chaque parcelle. Une larve de chaque colonie échantillonnée a été prélevée, placée dans une fiole et gardée à -20°C jusqu'à ce qu'elle soit examinée. Seules les colonies qui semblaient saines ont été échantillonnées.

Avec chaque larve conservée, on a préparé des frottis sur lames de verre, en utilisant des cure-dents jetables pour déchiqueter l'insecte et en étaler les tissus. L'utilisation de cure-dents avait pour but de prévenir la contamination croisée entre les frottis. Les lames ont été colorées avec la solution de

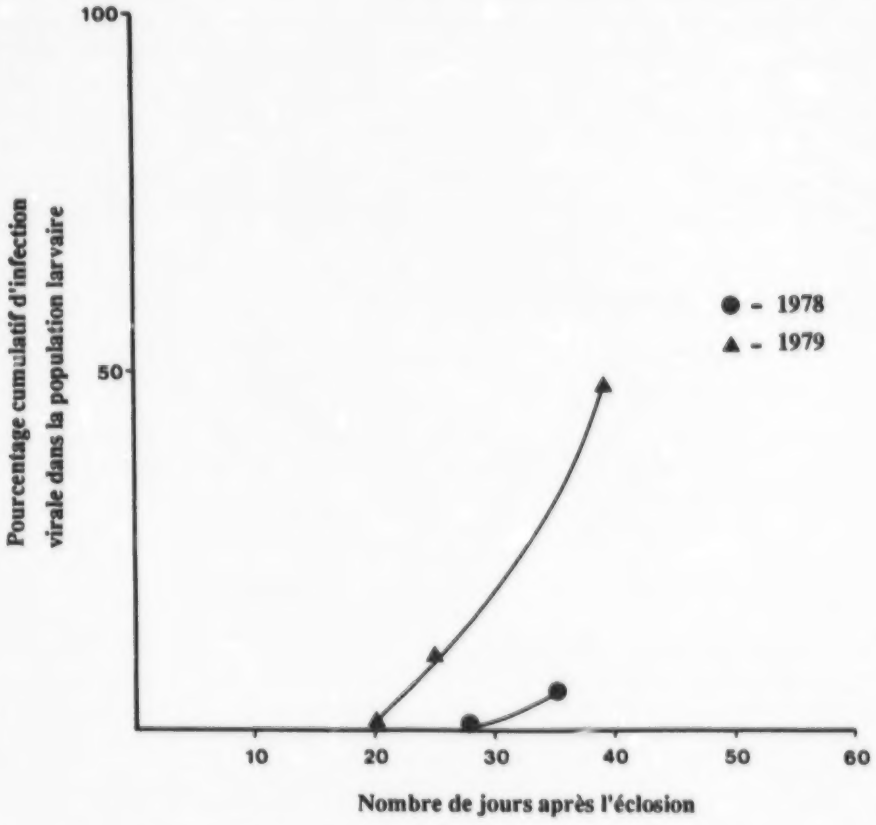


Figure 1. Courbes de croissance de l'infection (CCI) des épizootie de VPN observées dans les populations de diprions dans la parcelle W3 en 1978 et en 1979; aucune épizootie n'a été observée en 1980.

Giemsa (Wigley 1980). On a examiné tous les frottis au microscope à immersion, pour y déceler les corps d'inclusion virale. On a présumé que les frottis positifs provenaient de colonies infectées par le VPN. À partir de ces résultats diagnostiques et des dénombrements de colonies, on a estimé, pour chaque semaine, la proportion des colonies de diprions infectées par le VPN. On a utilisé ces données pour construire des courbes de croissance de l'infection (CCI) pour chaque population de diprions.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La présence d'épizooties virales a été observée dans 5 des 9 parcelles. Aucune épizootie n'a été décelée dans les parcelles W1, W2, W4 et W9 (tableau 2). Dans les populations de diprions touchées par l'épizootie, la proportion de larves infectées par le VPN augmentait en fonction du développement larvaire, produisant une courbe sigmoïde de croissance de l'infection (CCI).

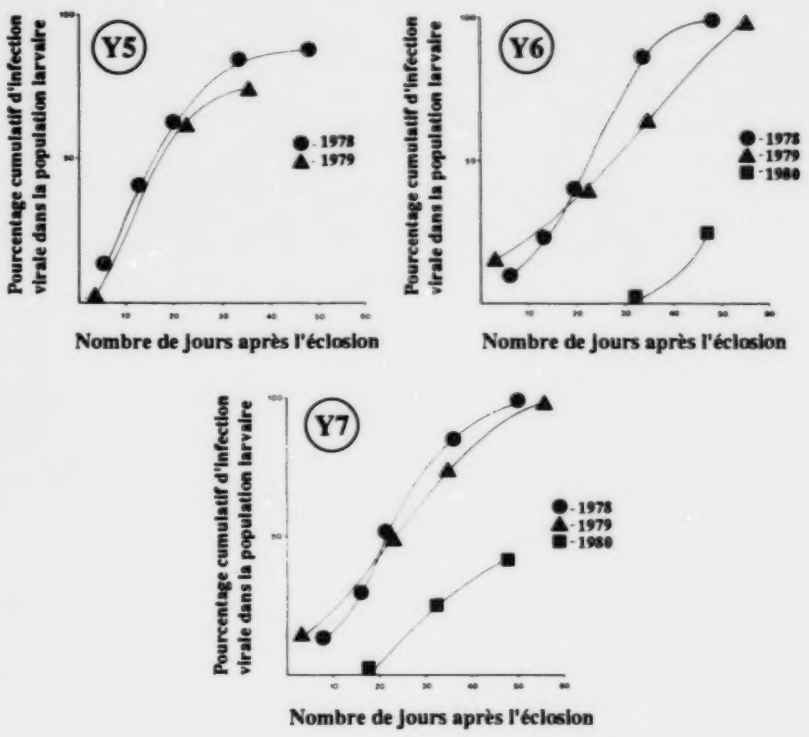


Figure 2. Courbes de croissance de l'infection (CCI) des épizooties de VPN observées dans les populations de diprions dans les parcelles Y5, Y6 et Y7. Les populations de la parcelle Y5 n'ont pas subi d'épizootie de VPN en 1980.

Des épizooties ont été observées en 1978 et en 1979 dans la parcelle W3 (figure 1). En 1978, l'infection par le VPN a été détectée dans la population de diprions 28 heures après l'éclosion des oeufs et elle a entraîné un taux de mortalité de 5% chez les larves. On a calculé que 1,06 x 10^{12}/ha corps d'inclusion polyédriques (CIP) ont été libérés dans l'écosystème forestier par suite de la mort de ces larves (Kaupp, 1983a). Ces CIP ont eu une influence sur l'épizootie de 1979, qui a commencé a détruire les insectes 20 jours après l'éclosion des oeufs et qui a touché 40 % de la population. On a calculé que la quantité d'inoculum libérée par suite de la mort de ces larves était de 4,5 x 10^{12} CIP/ha (Kaupp, 1983a). Il est évident que l'inoculum produit durant l'épizootie de 1978 a contribué au déclenchement d'une épizootie plus hâtive en 1979. En 1980, la maladie virale n'a pas été décelée dans les 13 colonies qui restaient, ce qui indique que la densité de la population est aussi importante que la présence d'inoculum pour le déclenchement d'une épizootie.

Dans les parcelles Y5, Y6 et Y7, on a observé des épizooties dont les résultats ont été spectaculaires (figure 2). Les CCI décrivant l'infection dans ces parcelles en 1978 étaient sigmoïdes. Le premier cas de mortalité attribuable au VPN a été enregistré 6 jours après l'éclosion et les taux de mortalité larvaire

totale ont atteint 87,5, 99,9 et 98.5% respectivement. On a calculé que 2,8 x 10^{12}, 3,7 x 10^{13} et 3,3 x 10^{14} CIP/ha respectivement ont été libérés dans l'écosystème forestier par suite de la mort des larves dans ces parcelles (Kaupp, 1983a). En 1979, les épizooties ont entraîné une mortalité de 75,0, de 99,9 et de 99,9% dans les parcelles Y5, Y6 et Y7 respectivement, et la maladie a été observée 3 jours plus tôt qu'en 1978. L'apparition hâtive de la maladie était une conséquence directe des grandes quantités de virus qui avaient été produites en 1978 et qui avaient persisté sur les arbres. Cependant, les quantités d'inoculum produites en 1979 dans ces parcelles, soit 5,5 x 10^{11}, 9,4 x 10^{12} et 4,4 x 10^{12} CIP/ha respectivement, ont été inférieures aux quantités produites en 1978, à cause de la plus faible densité de

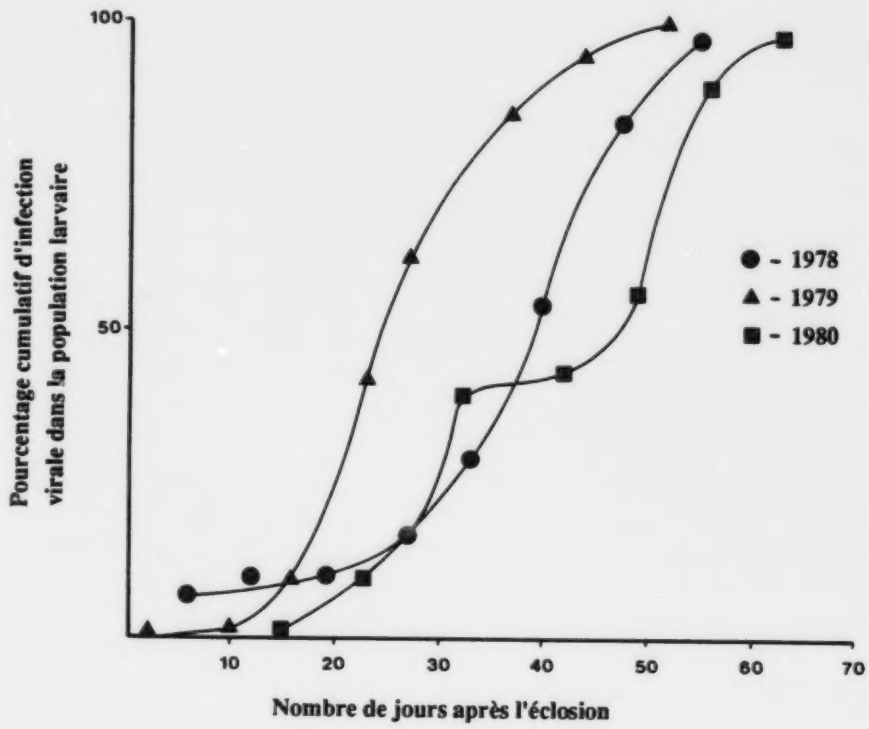


Figure 3. Courbes de croissance de l'infection (CCI) des épizooties de VPN observées dans les populations de diprions dans les parcelles S8.

population (Kaupp, 1983a). En 1980, on n'a observé aucune épizootie dans la parcelle Y5. Dans les parcelles Y6 et Y7, le taux d'infection virale a été beaucoup plus faible qu'en 1979, et le premier signe d'infection a été observé de 20 à 30 jours après l'éclosion des oeufs. Bien que le virus ait été présent dans l'environnement, les faibles densités de population ont empêché le déclenchement d'une épizootie importante.

Dans la parcelle S8, les épizooties se sont produites à peu près de la même façon que dans les parcelles Y5, Y6 et Y7 (figure 3). En 1978, la maladie a été observée pour la première fois 6 jours après

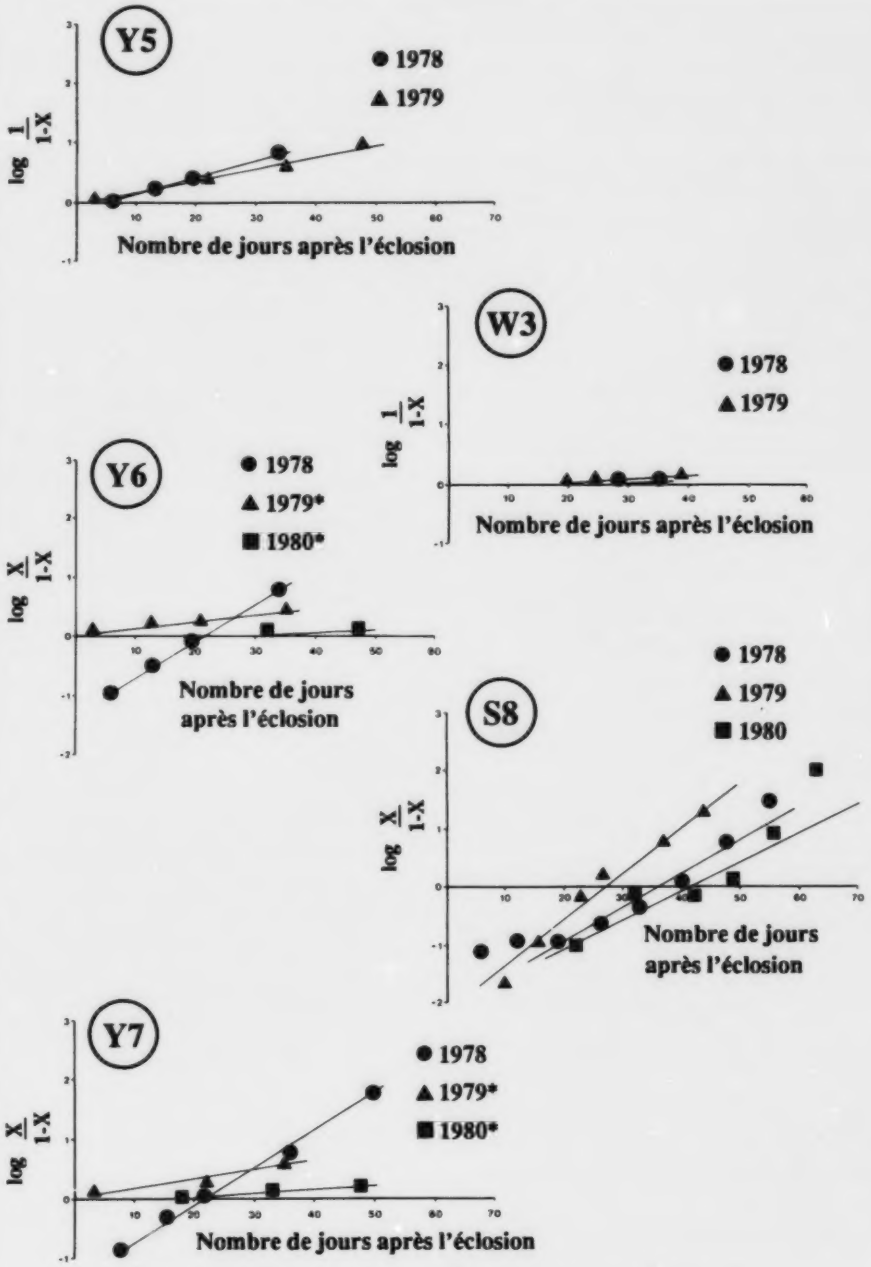


Figure 4. CCI normalisées pour toutes les parcelles d'étude. L'astérisque indique les années pour les quelles la CCI a été normalisée à l'aide de la transformation $\log_{10}$ [(1)/(1-X)].

Tableau 3. Taux d'infection trouvé des courbes de croissance de l'infection normalisé

Parcellle	1978	1979	1980
S8	0,05	0,08	0,06
Y7	0,06	0,02	0,01
Y6	0,06	0,01	0,01
Y5	0,02	0,02	NV
W3	0,01	0,02	NV

"NV" pas d'infection virale dans la population.

l'éclosion; la CCI était sigmoïde et le taux d'infection s'est élevé a 96,8%. Cette infection a entraîné la libération de 2,3 x 10^{15} CIP/ha dans l'écosystème forestier (Kaupp, 1983a). Par suite de cette libération, l'épizootie de 1979 a commencé plus tôt qu'en 1978 et a été plus intense, causant une mortalité de 99,8% parmi les insectes. Comme on pouvait s'y attendre, seulement 3,9 x 10^{14} CIP/ha ont été libérés dans l'écosystème forestier en 1979 (Kaupp, 1983a). En 1980, on a observé une épizootie dans la population de diprions, probablement à cause des grandes quantités de VPN qui avaient persisté dans le couvert. Cependant, l'infection n'a été détectée que tard dans la saison, à cause de la faible population de diprions. Le ralentissement de l'évolution de l'infection virale observé sur la CCI peut être attribué à une période de temps froid qui a retardé le développement des insectes et de l'agent pathogène.

Pour comparer les taux d'infection des diverses populations, on a normalisé les CCI en utilisant une transformation de type $\log_{10}[X)/(1-X)]$, où <<X>> représente la proportion de la population infectée, lorsque la densité des diprions était supérieure à une colonie par arbre. Lorsque la population de diprions était inférieure à une colonie par arbre, la transformation $\log_{10}[(1)/(1-X)]$ a été appliquée aux donnés, car l'évolution de la maladie ne reflétait que l'effet de l'inoculum primaire et qu'il n'y avait aucune possibilité que l'infection prenne plus d'ampleur par suite de l'infection ou de la mort des colonies adjacentes (van der Plank, 1963) (figure 4). L'examen des pentes des CCI normalisées indique que l'évolution des épizooties dans les populations de diprions dont la densité était supérieure à une colonie par arbre a été plus rapide (0,5-0,09 unité infectieuse par jour) que dans les populations de densité plus faible (0,01-0,02 unité infectieuse par jour) (tableau 3). Cette différence peut être attribuée à une dynamique faisant intervenir divers facteurs liés entre eux comme la propagation de la maladie, la production d'inoculum et la persistance du VPN en présence de densités variables du diprion du pin sylvestre. Dans le cas présent, cette différence reflète la relation de dépendance qui existe entre les épizooties causées par le VPN de *N. sertifer* et la densité de l'hôte. Les faibles taux d'infection sont dus aux probabilités réduites que survienne une infection larvaire causée par l'inoculum qui persiste dans le couvert lorsque les densités de population sont faibles.

CONCLUSION

L'évolution des épizooties causées par le VPN dans les populations de *N. sertifer* dépend de la densité et l'infection évolue habituellement selon un modèle sigmoïde caractéristique. Les conditions météorologiques et la quantité d'inoculum produite durant les épizooties antérieures influent également sur la nature de l'épizootie. Lorsque de grandes quantités d'inoculum sont présentes, la persistance du VPN dans le couvert forestier a tendance à augmenter, ce qui fait que l'infection de la prochaine génération de diprions touche un stade larvaire plus hâtif. La quantité d'inoculum produite, qui à son tour contaminera l'écosystème forestier, est alors réduite. Avec la diminution du nombre de diprions, la nature de l'épizootie se modifie: de spectaculaire qu'elle était, elle devient banale.

L'évolution des épizooties parmi les populations de forte densité de diprions du pin sylvestre est semblable à l'évolution des épizooties virales observées parmi les populations de diprions de LeConte (*Neodiprion lecontei* [Fitch]) (de Groot et Cunningham, 1983). Les données existantes sur d'autres insectes ne peuvent être utilisées pour déterminer la vitesse d'évolution des épizooties, car les méthodes d'échantillonnage n'ont pas été conçues pour nous renseigner sur la proportion de la population de l'insecte-hôte qui est infectée à un moment particulier. Bien que les taux d'infection soient souvent utilisés pour évaluer l'efficacité des virus, il faudrait effectuer des mesures plus précise, de façon à pouvoir établir des comparaisons significatives entre différents complexes insecte-virus.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bird, F.T.; Burke, J.M. 1961. Artificially disseminated virus as a factor controlling the European spruce sawfly, *Diprion hercyniae* (Htg.), in the absence of introduced parasites. Can. Entomol. 93:228–238.

Cunningham, J.C.; Kaupp, W.J.; Howse, G.W. 1988. Experimental aerial applications of Disparvirus for control of gypsy moth in Ontario. Rept. 16th Ann. For. Pest Contl. Forum Nov. 15, 1988. Ottawa, Canada. 13 pp.

deGroot, P.; Cunningham, J.C. 1983. Aerial spray trials with a baculovirus to control redheaded pine sawfly in Onatrio in 1979 and 1980. Canadian Forestry Service. Forest Pest Management Institute Info. Rept. FPM-X-63. 12 pp.

deGroot, P.; Cunningham, J.C., 1983. Essais de pulvérisations aériennes d'un baculovirus en 1979 et 1980 en vue de réprimer le diprion de LeConte en Ontario. Service canadien des forêts. Institut pour la répression des ravageurs forestiers. Rapport d'information FPM-X-63F, 12 pages.

Entwistle, P. 1986. Epizootiology and strategies of microbial control. Fortschritte der Zoologie 32:257-278.

Kaupp, W.J. 1981. Studies on the ecology of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly, *Necdiprion sertifer* (Geoff.) D. Phil. Thesis. Univ. of Oxford, U.K. 363 pp.

Kaupp, W.J. 1983a. Estimation of nuclear polyhedrosis virus produced in field populations of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) (Hymenoptea:Diprionidae). Can. J. Zool. 61:1857-1861.

Kaupp, W.J. 1983b. Persistence of *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera:Diprionidae) nuclear polyhedrosis virus on *Pinus contorta* foliage. Can. Entomol. 115:869-873.

Kaupp, W.J. 1989. Écologie d'un virus de la polyédrose nucléaire qui infecte le diprion du pin sylvestre (*Neodiprion sertifer* [Geoff.]) en Grande-Bretagne. Forêts Canada, Institut pour la répression des ravageurs forestiers. Rapport d'information. Sous presse.

Kaupp, W.J. 1989. Ecology of a nuclear polydrosis virus infection European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) in Great Britain. Forestry Canada. Forest Pest Management Institute Info. Rep. In Press.

Kaupp, W.J.; Cunningham, J.C.; Cadogan, B.L. 1989. Aerial application of high dosages of nuclear polyhedrosis virus to early instar spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). Forestry Canada. Forest Pest Management Institute Inf. Rep. In Press.

Kaupp, W.J., Cunningham, J.C.; Cadogan, B.L. 1989. Pulvérisations aériennes à hautes doses de virus de la polyédrose nucléaire pour lutter contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* [Clem.]) aux premiers stades larvaires. Forêts Canada, Institut pour la répression des ravageurs forestiers. Rapport d'information. Sous presse.

Stairs, G. 1965. Artificial initiation of virus epizootics in forest tent caterpillar populations. Can. Entomol. 97:1059-1062.

Van der Plank, J.E. 1963. Plant Disease; Epidemics and Control. Academic press, New York, U.S.A. 349 pp.

Wigley, P.J. 1980. Counting micro-organisms. Pages 29-34 in J. Kalmakoff and J.F. Longworth (Eds.) Microbial Control of Insect Pests. N.Z. DSIR Bulletin 228.

Woods, S.A.; Elkinton, J.S. 1987. Bimodal patterns of mortality from nuclear polyhedrosis virus in gypsy moth (*Lymantria dispar*) populations. J. Invertebr. Pathol. 50:151-157.